

Sähköstimulaation vaikutus motoristen lihasvasteiden amplitudien muutokseen parillisessa assosiatiivisessa stimulaatiossa

Roope Havu

LK, HuK

Clinicum

Helsinki 2.6.2019

Tutkielma

roope.havu@helsinki.fi

Ohjaaja: LT Anastasia Shulga

HELSINGIN YLIOPISTO

Lääketieteellinen tiedekunta

HELSINGIN YLIOPISTO □ HELSINGFORS UNIVERSITET

Tiedekunta/Osasto □ Fakultet/Sektion – Faculty Lääketieteellinen tiedekunta		Laitos □ Institution – Department Clinicum	
Tekijä □ □ □ Författare – Author Roope Havu			
Työn nimi □ □ Arbetets titel – Title Sähköstimulaation taajuuden vaikutus motoristen lihasvasteiden amplitudien muutoksiin parillisessa assosiatiivisessa stimulaatiossa			
Oppiaine □ Läroämne – Subject Lääketiede			
Työn laji □ □ Arbetets art – Level Syventävä tutkielma		Aika □ □ Datum – Month and year 2.6.2019	Sivumäärä □ -Sidoantal - Number of pages 26+1
Tiivistelmä □ □ Referat – Abstract <p>Selkärankavammat eivät useinkaan ole täydellisiä, vaan niissä jää usein selkärankaan yhteyksiä, jotka koostuvat osin alemmista motoneuroneista, eli aivojen ja lihasten yhteyksistä. Jäljellejääneet yhteydet ovat kuitenkin usein niin heikkoja, että potilas ei pysty hyödyntämään niitä täysimääräisesti. Siksi yhteyksien vahvistaminen olisi potilaiden toimintakyvyn lisäämiseksi ratkaisevaa.</p> <p>On tiedetty jo pitkään, että kahden ärsykkeen yhtäaikainen kohtaaminen kahden neuronin kohdalla johtaa yhteyden vahvistumiseen, kunhan kohtaaminen tapahtuu millisekuntien tarkkuudella. Parillisessa assosiatiivisessa stimulaatiossa pyritään hyödyntämään tätä periaatetta. Siinä annetaan aivoihin pään ulkopuolelta magneettipulssi motoriselle korteksille kohtaan, joka ohjaa ihmisen lihaksia samaan aikaan kun toisesta suunnasta annetaan sähköimpulssi. Ärsykkeet pyritään saamaan kohtaamaan alemman motoneuronin kohdalla, jotta tämän toiminta vahvistuisi ja siten selkärankavamman saanut henkilö pystyisi käyttämään lihaksiaan paremmin kuin ennen hoitoa. Menetelmän käytöstä on saatu lupaavia tuloksia erilaisten selkärankavammojen hoidossa. Tämän takia tutkimus parilliseen assosiatiivisen stimulaatioon on tällä hetkellä hyvinkin aktiivista. Koska kyseessä on suhteellisen uusi hoitomuoto, selvitetään tässä kohtaa vielä muuttujia, joilla hoito antaa parhaat tulokset.</p> <p>Syventävässä tutkielmassani selvitin sitä, onko parillisella assosiatiivisella stimulaatiolla aikaansaadun motoristen lihasvasteiden muutoksen kannalta merkitystä, onko jalkaan annetun sähköimpulssisarjan taajuus 100, 200 vai 400 hertsiä. Jo aiemmin oli todettu, että 100 hertsiä on tehokkaampi kuin 25 tai 50 hertsiä. Koehenkilöinä oli terveitä aikuisia. Tutkimukseni tulosten perusteella tilastollisesti merkitseviä eroja ei 100, 200 ja 400 hertsin välillä ollut. Täten 100 hertsiä vaikuttaisi olevan suositeltava taajuus käytettäväksi parillisessa assosiatiivisessa stimulaatiossa.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords Transcranial Magnetic Stimulation, Transcutaneous Electric Nerve Stimulation, Spinal Cord Injuries, Rehabilitation, Neuronal Plasticity			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited			
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information			

Sisällys

1 Johdanto.....	1
2 Kirjallisuuskatsaus.....	2
2.1 Motorinen järjestelmä.....	2
2.2 Sähkömagneettiset stimulaatiomenetelmät.....	6
2.3 PAS	10
3 Tutkimuksen tavoitteet	13
4 Menetelmät	13
4.1 Koehenkilöt	13
4.2 TMS-stimulaatio	13
4.3 PNS ja F-responssit	15
4.4 Kokeen kulku.....	16
4.5 Tilastolliset menetelmät	18
5 Tulokset	19
6 Pohdinta.....	21
Lähdeluettelo	23

1 Johdanto

Donald Hebb teoretisoi jo 1940-luvulla kuuluisassa kirjassaan *The Organization of Behavior* (1), että kahden neuronin yhtäaikainen laukeaminen johtaisi presynaptisen neuronin toiminnan vahvistumiseen. Tätä niin kutsuttua Hebbin teoriaa pystyttiin todistamaan vasta 80- ja 90-luvulla eläinkokeissa, joissa tutkittiin pre- ja postsynaptisten neuronien toiminnan muokkaantumista silloin, kun molemmille neuroneille annetaan impulssi tai joukko impulsseja. Näissä tutkimuksissa kävi selväksi, että annettujen impulssien ajoituksella on suuri merkitys sille, tapahtuuko neuronien välisessä synapsissa vahvistumista vai ei (2). Erityisesti havaittiin, että jos presynaptiselle neuronille annetaan stimulaatiota ennen kuin postsynaptiselle neuronille, saadaan aikaan synaptisen yhteyden vahvistumista, jolloin syntyi käsite Long-Term Potentiation (LTP; suomeksi kesto vahvistuminen). Ajoituksen merkitys nähdään kuitenkin siinä, että LTP syntyi vain, jos stimulaatio annettiin presynaptiselle neuronille ennen kuin postsynaptiselle neuronille. Jos stimulaatio annetaan postsynaptiselle neuronille ensiksi, tapahtuu vastakkainen ilmiö, nimeltään Long-Term Depression (LTD, suomeksi kestoheikentyminen). Nämä kaksi ilmiötä tunnetaan yhdessä nimellä Spike-Time-Dependent Plasticity (STDP). On huomattavaa, että vahvistumisen tapahtumiseksi presynaptisen neuronin ärsytyksen tulee tapahtua ajallisesti riittävän lähellä postsynaptisen neuronin ärsytystä. Alkuperäisessä Levyn ja Stewardin tutkimuksessa todettiin, että 20 ms:n ero ärsytyksissä aiheuttaa vielä synapsin vahvistumista, ja myöhemmin on todettu, että n. 25 ms:n ero on optimaalinen vahvistumisen saavuttamiseksi (2,3). Nämä tutkimukset koskivat kuitenkin vain käden lihaksia, ja myöhemmin on selvinnyt, että STDP on huomattavasti monimutkaisempi ilmiö, jossa annettujen stimulusten aikaeron vaikutus on selkeästi monimutkaisempi.

Tämä oli pitkään vain teoreettinen konsepti mitä tulee ihmisen oppimiseen, koska ainoa tapa todeta LTP:tä oli eläinten neuronien tutkiminen. 2000-luvun alussa kuitenkin kehitettiin tapa, jolla LTP:tä voisi saada aikaan ihmisessä noninvasiivisesti (4), jossa kaksi eri lähdettä kohtaisi siten, että saataisiin tuotettua LTP:n omainen potentiaatio. Alkuperäisessä Stefanin kokeessa annettiin transkraniaalista magneettista stimulaatiota (TMS; ks. luku 2.2.2) sille motorisen korteksin kohdalle, joka olisi optimaalinen abductor

pollicis brevis -lihaksen toiminnan indusoimiseksi samalla, kun mediaanihermolle annettiin matalataajuisia stimulaatiota (Periferal Neural Stimulation, PNS; ks. luku 2.2.3) Tämä protokolla sai abductor pollicis brevis kohdalta mitatut sähköpotentiaalit (Motor Evoked Potentials, MEPs) kohoamaan. Menetelmälle annettiin nimeksi Paired Associative Stimulation (PAS). Stefan tulkitsi tulokset siten, että plastiset muutokset, jotka saivat aikaan lihasten kohonneen MEP:n, tapahtuisivat motorisella korteksilla. MEP:it olivat koholla 30-60 minuuttia. Muutokset olivat samankaltaisia kuin aikaisemmat hebbiläisen LTP:n aikaansaamat muutokset, minkä perusteella ehdotettiin, että PAS olisi noninvasiivinen tapa tutkia LTP:n vaikutusta ihmisessä.

Tämä tutkielma on osa suurempaa projektia, jonka tarkoituksena on kehittää PAS:ia, jotta se voisi auttaa osittaisen selkäydinvamman kärsineiden ihmisten tilannetta lisäämällä heidän kykyään liikuttaa halvaantuneita lihaksiaan. Oma tutkimukseni selvittää tästä sitä osaa, onko PNS:n taajuudella merkitystä sille, millainen vaste saadaan. Tähän asti on todettu, että 100 Hz on parempi PNS-taajuus kuin 25 Hz tai 50 Hz. Tässä tutkielmassa verrataan 100 Hz:n, 200 Hz:n ja 400 Hz:n taajuuksia, ja selvitetään, onko 100 Hz soveltuvin PNS:n taajuus myös sitä korkeampiin taajuuksiin verrattuna.

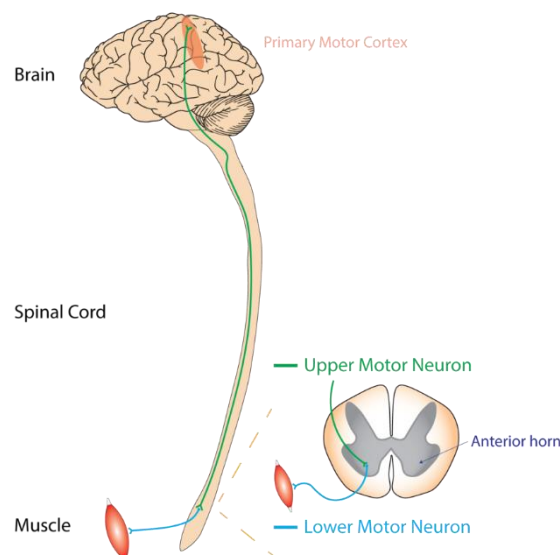
2 Kirjallisuuskatsaus

2.1 Motorinen järjestelmä

2.1.1 Motorisen järjestelmän anatomia ja fysiologia

Ihmisen motorinen järjestelmä koostuu neurologisesti katsoen aivokuoren motorisista alueista, basaaliganglioista, pikkuaivoista, selkäytimestä sekä lihasten motoneuroneista. Yksinkertaisimmillaan ihmisen tietoisien liikkeen anatomian voi jakaa kahteen osaan: aivokuorella oleviin ylempiin motoneuroneihin ja ventraalisen sarven alempiin motoneuroneihin. Yleisesti ottaen ylemmistä motoneuroneista lähtee signaaleja selkäytimen alempiin motoneuroneihin, jotka taas hermottavat lihaksia (Kuva 1). Tarkemmin tarkastellen kuitenkin havaitaan, että järjestelmä on huomattavasti tätä

monimutkaisempi. Ylemmät motoneuronit esimerkiksi harvoin synapsoivat suoraan alempien motoneuroneiden kanssa. Sen sijaan ylempien motoneuronien aksonien kohde on alempien motoneuronien pooli, joka koostuu useammasta alemmasta motoneuronista, joista osa sijaitsee mediaalisemmin selkäytimessä. Näiden alempien motoneuronien poolin tehtäviin kuuluu muun muassa refleksinomaisen tasapainon säilyttäminen ja muu refleksinomaisen toiminnan koordinoiminen. Tämä johtuu siitä, että myelinoituneidenkin aksonien signaalinkuljetusnopeus on sellainen, että aivokuoren ylemmästä motoneuronista kestää parisenkymmentä millisekuntia ennen kuin informaatio ehtii alemmalle motoneuronille. Jos esimerkiksi ihmisen horjahtaessa koko tämä matka alemmasta motoneuronista ylemmään ja takaisin jouduttaisiin kulkemaan, ihmisen tasapainon säilyttäminen tai kävelyrytmin ylläpitäminen kävisivät huomattavasti vaikeammiksi, elleivät mahdottomiksi. Aivokuoren motoneuronien jättäminen pois tästä hermoverkosta on siten pitkälti käytännön sanelema pakko.



Kuva 1. Kortikospinaalinen motorinen järjestelmä. Kuvassa näkyvät lihaksia liikuttavan kortikospinaalisen motorisen radan synapsit. Motorisen aivokuoren ylempi motoneuroni synapsoi vastakkaisen puolen alemman motoneuronin kanssa selkärangassa (sininen ja vihreä hermo). Alempi motoneuroni hermottaa lihasta. Tekijä: Rcchang16 (Wikipedia; Creative Commons Attribution-Share Alike 4.0 International license).

Suurin osa ihmisen tahdonalaisista liikkeistä tapahtuu ylempien motoneuronien ohjaamana aiemmin kuvatulla tavalla, niin kutsuttua kortikospinaalista rataa pitkin. Pään ja kasvojen alueella on vastaava järjestelmä, jota kutsutaan kortikobulbaariseksi radaksi, joka ohjaa esimerkiksi kasvojen ilmeitä ja nielemisrefleksiä. Tämä kortikobulbaarinen rata vastaa muun kehon alueelle kulkevaa kortikospinaalista rataa sillä erolla, että sitä

hermottavat aivohermot, ja sen järjestely on erilainen kuin kortikospinaalisen radan. Koska tässä tutkielmassa keskitytään kortikospinaalisen radan toimintaan ja sen palauttamiseen ja parantamiseen, kortikobulbaarinen rata mainitaan tässä lähinnä selvennykseksi siitä, että kaikkia ihmisen lihaksia kortikospinaalinen rata ei ohjaa. Kortikobulbaarisen ja kortikospinaalisen radan hermottamien lihasten raja kulkee noin ihmisen niskan kohdalla siten, että niskan lihakset kuuluvat vielä kortikospinaalisen radan vastuulle, mutta kaikki siitä rostraalisemmin sijaitsevat lihakset ovat eri aivohermojen hermottamia kortikobulbaarisen radan kautta.

Ylemmät motoneuronit voidaan lisäksi jakaa tavallaan kahteen alueeseen, eli primaariseen motoriseen korteksiin, josta suurin osa suorista aksoneista alempiin motoneuroneihin lähtee, ja premotoriseen korteksiin, joka osallistuu liikkeiden suunnitteluun enemmän kuin itse liikkeiden varsinaiseen toteutukseen. Premotorisen korteksin vasemmanpuoleinen (joskus vaihtoehtoisesti tai lisäksi oikeanpuoleinen) osa sisältää myös Brocan alueen, joka on tunnettu sen olennaisesta merkityksestä puheen tuoton kannalta.

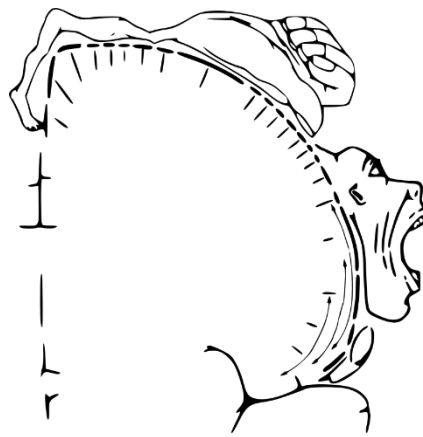
Motorisesta kortekstista lähtevien neuronien liikekäskyjen tarkempaa liikettä ihmisessä moduloivat useat muutkin aivoalueet, erityisesti useat basaaliset gangliot ja pikkuaivot. Pikkuaivot saavat informaatiota sekä neuroneilta, jotka lähettävät kortikaalisilta alueilta varsinaisia liikkeitä aloittavia impulsseja, että sensorisilta säikeiltä, joiden avulla pikkuaivot vertaavat aiottua liikettä tapahtuneeseen liikkeeseen. Tämä on erityisen tärkeää tarkkuutta vaativien motoristen toimien oppimisessa ja kehittämisessä (5). Olennaiset basaaliset gangliot, jotka vaikuttavat ihmisen liikkeisiin ovat caudatus, putamen, globus pallidus ja substantia nigra. Basaaliset gangliot muodostavat premotorisen ja motorisen korteksin kanssa yhdessä verkoston, jonka yhtenä päätehtävänä on tahdonalaisten liikkeiden aloittaminen sekä tahdottomien liikkeiden alkamisen estäminen (tämä on havaittavissa esimerkiksi Parkinsonin taudissa, jossa substantia nigran solut kuolevat, haitaten liikkeiden aloittamista, ja Huntingtonin taudissa, jossa caudatuksen ja putamenin atrofia johtaa tahattomiin liikkeisiin; 6, 7).

Tämän tutkimuksen kannalta on huomattavaa, että nimenomaan primaarisen motorisen korteksin neuronit vaikuttavat olevan herkimpiä laukeamaan ulkoisen stimuluksen

johdosta verrattuna muihin neuroneihin (5) Lisäksi tässä tutkimuksessa keskitytään kuitenkin lähinnä siihen, miten ylempien motoneuronien stimulaatio yhdessä alempien motoneuronien kanssa voi aiheuttaa synapsien vahvistumista alaneuroneissa, joten basaalisten ganglioiden tai pikkuaivojen vaikutusta liikkeeseen ei tässä tutkimuksessa huomioida.

2.1.2 Jalan tietoiseen liikuttamiseen liittyvät synaptiset kytkökset

Ihmisen kehosta on representaatio motorisella korteksilla, joka on organisoitu somatotooppisesti (Kuva 2). Tämä tarkoittaa sitä, että kullekin ihmisen motoriselle alueelle on oma alueensa, joka sitä motoriselta korteksilta ohjaa.



Kuva 2. Motorinen homunculus. Piirroskuvassa näkyy lihasten hermostolliset edustukset motorisella aivokuorella. Jalan motoriset edustukset sijaitsevat aivopuoliskojen välisen uurteen sisäpinnalla. Tekijä: <mailto:ralf@ark.in-berlin.de> (Creative Commons Attribution-Share Alike 4.0 International license).

Motorisen korteksin somatotopiaa voidaan hahmottaa esimerkiksi kuvassa 2 nälyvällä homunculus-hahmolla, joka on karkea kuvaus ihmisen ruumiista, jossa pää ja ylemmät raajat ovat lateraalisimpina ja jalkojen alue korteksilla kuvautuu keskifissuuraan. Lisäksi tämä homunculus ei ole mitoiltaan ihmisen ruumiin kaltainen, vaan ne alueet, joiden ohjaamiseen ihminen tarvitsee suurinta hienovaraisuutta, ottavat käyttöön isomman osan aivoista. Kädellisenä ihminen tarvitsee hyvinkin hienovaraista käsien hallintaa, joten motorisen korteksin representaatioissa käsien alue on huomattavasti suurempi kuin vaikkapa keskivartalon tai jalkojen.

Jalkoja liikuttavat selkäytimen tasolla L1:n tasolla ja sen alapuolella olevat hermojuuret. Tässä tutkimuksessa tutkittavaa abductor hallucista liikuttaa keskimmäinen jalkapohjahermo eli nervus medialis plantaris, joka saa selkäytimen tasolla hermotuksensa hermojuurista S2 ja S3 (8).

2.1.3 Selkärankavammat ja niiden nykyiset hoito- ja kuntoutusmenetelmät

Läntisessä maailmassa tapahtuu vuosittain arviolta 32 000 selkärankavammaa vuosittain, jotka voidaan jaotella täydellisiin ja epätäydellisiin. N. 55%:lla potilaista on niin kutsuttu funktionaalisesti epätäydellinen selkärankavamma, eli jonkinlaista sensorista tai motorista toimintaa on vielä havaittavissa. Anatomisella tasolla jopa 65 %:lla potilaista voi olla jonkin asteista yhteyttä selkärangan eri osien välillä MRI:n ja histopatologian perusteella (9). Näistä syistä on ymmärrettävää, että on pyritty selvittämään, miten näitä vammoja voisi hoitaa ja auttaa erityisesti epätäydellisten vammojen kohdalla jäljelle jääneitä yhteyksiä toimimaan paremmin ja parantamaan potilaiden elämänlaatua.

Tällä hetkellä yksi hoito on epiduraalinen stimulaatio yhdistettynä fysioterapiaan, jolla on saavutettu alustavia tuloksia (10). Erinäisiä implantoituvia stimulaattoreita on myös käytetty (11). Erinäisiä tekniikoita on ehdotettu, kuten perifeeraalisten hermojen siirtoa, hajuhermoston solujen siirtoa ja alkion aivokudoksen siirtoa (12). Vähemmän invasiivisina keinoina hoitaa selkärangan vammaa on ehdotettu neuroprotektiivista dieettiä, ja useat selkärankapotilaat saavat apua fysioterapiasta riippumatta siitä, mitä muuta hoito mahdollisesti annetaan (13). PAS:n etuna suurimpaan osaan ehdotetuista terapioidista on se, että se on noninvasiivinen. Täten siis vältetään ihon rikkomiselta ja kaikilta niiltä ongelmilta, mitä se saattaa aiheuttaa.

2.2 Sähkömagneettiset stimulaatiomenetelmät

2.2.1. Sähkömagneettisen stimulaation historiaa

Jo Luigi Galvani 1700-luvun lopulla havaitsi sammakoilla tekemissään kokeissa, että hermoston stimuloiminen sähköllä sai kuolleidenkin eläinten lihakset toimimaan (ks.

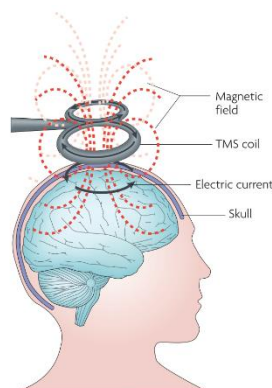
esim. 14). Näiden kokeiden seurauksena Alessandro Volta muun muassa kehitti ensimmäisen sähkökemiallisen pariston (15). Varhaisimpia sähkön käyttöjä aivojen toimintaan vaikuttamisessa oli sähköshokkiterapia (Electro-Convulsive Therapy, ECT), jota käytettiin jo vuonna 1938 (16). Nimensä mukaisesti se aiheutti tahattomia spasmeja lihaksissa, vaikka päämääränä oli silloin ja on yhä vaikeiden psykiatristen tilojen, kuten hoitoresistentin skitsofrenian, hoito. Vaikeutena aivoihin vaikuttamiseen sähköisesti on kallon aiheuttama resistenssi sähkölle. Yksi ratkaisu on käyttää voimakasta sähkökenttää kuten ECT:ssä, mutta tässä on omat vaaransa, mistä syystä nykyään ECT:n käyttö rajoittuu potilaisiin, joilla on vaikeasti hoidettavia tiloja, kuten refraktorinen masennus tai hoitoresistentti skitsofrenia (ks. esim. 17).

1980-luvulla kehitettiin ensin transkraniaalinen sähköstimulaatio (Transcranial Electric Stimulation, tES) vuonna 1980. TES:stä on kaksi päämuotoa, transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) ja transcranial Alternating Current Stimulation (tACS) (18). TMS kehitettiin pian sen jälkeen, vuonna 1985 (19). Näiden hoitomuotojen tarkoituksena oli vähäisempiä energiamääriä käyttäen pystyä täsmällisempään ja vähemmän intensiiviseen aivojen stimulointiin. TES:ssä annetaan suhteellisen isojen elektrodien avulla (ad 5 x 7 cm) (18) suhteellisen matalia virtoja (0.5–2 mA). Nämä annetut virrat ovat siten matalia, että ne tuskin kykenevät aiheuttamaan suoraan neuronaaalisia aktiopotentiaaleja, mutta kuitenkin modifioimaan niiden esiintymistä. TES:n mahdollisia käyttötarkoituksia ja sen tarkkaa vaikutusmekanismia ei tällä hetkellä tiedetä (18). Jotkut henkilöt kokevat TES:n myös jossain määrin epämiellyttävänä, koska se aktivoi kallon ihon tuntohermoja. TMS:stä kerrotaan tarkemmin tutkielman seuraavassa luvussa.

Edellä mainittujen lisäksi on kehitetty monia muitakin sekä invasiivisia että ei-invasiivisia sähköisiä ja magneettisia aivojen ja hermoston stimulaatiomenetelmiä, kuten syväaivostimulaatio (Deep Brain Stimulation, DBS), sekä Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation (TENS), joka on oleellinen myös PAS:n kannalta, koska PAS on tekniikka, joka yhdistää TMS:n ja TENS:n. TENS:ssä ärsytetään hermoja noninvasiivisesti iholle asetettujen elektrodien kautta, jolloin saadaan aikaan hermossa impulssi. TENS:stä kerrotaan tarkemmin tutkielman luvussa 2.2.3.

2.2.2 Transkraniaalinen magneettistimulaatio

TMS toimii ärsyttämällä kortikaalisia neuroneita voimakkaalla magneettikentällä. Faradayn lakien mukaisesti muuttuva magneettikenttä saa aikaan muutoksen elektronin liikemäärässä ja päin vastoin. Koska sähköinen toiminta on aivoissa jatkuvaa, TMS:n aiheuttama muuttuva magneettikenttä saa aikaan tilapäisen vaikutuksen näiden sähkömagneettisten lakien mukaisesti (Kuva 3).



Kuva 3. TMS:n toimintaperiaate. TMS:ssä kelan sisällä kulkeva sähkövirta indusoi magneettikentän, joka puolestaan indusoi sähkökentän ja sitä myöten sähkövirran kelan alla olevassa aivokudoksessa. Lähde: RIDDING, Michael C and ROTHWELL, John C, 2007, Is there a future for therapeutic use of transcranial magnetic stimulation? *Nature reviews. Neuroscience*. 2007. Vol. 8, no. 7, p. 559–567. DOI 10.1038/nrn2169 (Creative Commons Attribution-Share Alike 4.0 International license).

TMS:n etu edellä mainittuihin sähköterapioihin verrattuna on se, että kallon luut eivät juurikaan estä magneettikenttää, joten aivoissa voidaan tuottaa ECT:tä voimakkaampia sähköisiä muutoksia ilman kudonsvaurion tai epileptisten kohtausten vaaraa. TMS:n aiheuttama sähköimpulssi aivoissa on myös selvästi voimakkaampi kuin TES:n kohdalla. TES:llä aivoissa aiheutettu virta on juuri ja juuri sitä luokkaa, että se on eläinkokeissa aiheuttanut vaikutuksia, eli 0.4 V/m päänahan kohdalla (18), kun taas TMS:n aiheuttama sähköinen virta voi olla arvioidusti jopa yli 100 V/m, mistä syystä sen aikaansaamat vaikutukset ovat voimakkaampia kuin TES:n. Huomautettakoon tässä kohdin vielä, että vaikka TMS tuottaa useamman teslan vahvuisen pulssin, se on niin lyhytkestoinen, että siirtyvän energian määrä ei ole vaarallinen. Korkeimmillaan on mitattu alle 0,1°C:n korkuisia lämmönkohoamisia, kun esimerkiksi DBS:ssä on mitattu 0,8°C:n lämmön nousua elektrodien kohdalla (20). TMS:n on todettu olevan turvallinen stimulaatiomenetelmä (ks. esim. 21).

TMS-pulsseja voidaan antaa joko yksittäisiä tai useampia peräkkäin, jolloin puhutaan repeated TMS:stä (rTMS; 22). Pulseja on myös erilaisia (bifaasiset ja monofaasiset) ja niiden vaikutus aivojen eri hemisfäärien toimintaan vaihtelee (22). Myös käämimuotoja on erilaisia: esimerkiksi ympyränmuotoinen ja kahdeksikko (19,22). Tässä tutkielmassa käytetty käämi on kahdeksikon muotoinen paremman tarkkuuden saamiseksi. Monimutkaisempien muotojen kehittäminenkin saattaa olla edullista, mutta koska useamman magneettikentän yhteisvaikutukset ovat monimutkaisia, tämä vaatii jo enemmänkin fysikaalis-matemaattista lähestymistapaa (23).

2.2.3 TENS

TENS on tekniikka, jossa annetaan sähköä iholle asetettavilla elektrodeilla (yleensä noin 10-50 mA:n virralla) (24). TENS:n lisäksi olennaisesti samasta proseduurista käytetään myös nimeä PNS (Peripheral Nerve Stimulation), jolla viitataan yksinkertaisesti siihen, että stimuloidaan perifeeraalisia hermoja. Tätä terminologiaa käytetään PAS:n yhteydessä sen korostamiseksi, että TMS, joka on PAS:n toinen osa-alue, tuottaa vaikutuksensa pään alueella, kun taas PNS:n osuus on lähettää signaali perifeeraalisesta suunnasta. Tästä johtuen tässä tutkielmassa käytetään termiä PNS TENS:n sijaan.

PNS:n soveltaminen sinänsä on hyvin yksinkertaista: iholle asetetaan kaksi elektrodia, joiden läpi johdetaan sähköä, jotka tuottavat toivotun lopputuloksen, eli hermon ärsytyksen ja sitä kautta aktiopotentialin laukeamisen. Koska käytetyt energiamäärät ovat varsin matalia, PNS on varsin turvallinen, joskin jotkut kokevat sen epämiellyttäväksi, ja ainakin joillain elektrodeilla on todettu eryteemaa ja kutinaa (24).

2.2.4 Sähkömagneettisten stimulaatiomenetelmien klinisiä sovelluksia

TMS:ää on kokeiltu hoidollisena menetelmänä toistaiseksi ainakin skitsofreniaan, bipolaarisyndroomaan ja hoitoresistenttiin masennukseen, mutta vaihtelevin tuloksin (22). TMS:ää on käytetty paljon myös neurokirurgisten operaatioiden kohdalla preoperatiivisesti selvittämään potilaiden aivojen alueiden reaktioita, jotta neurokirurgien on mahdollista välttää tärkeitä alueita ja saavuttaa parempia tuloksia esimerkiksi glioblastoomien leikkauksissa (25).

TENS:n yleisin käyttöaihe on ollut kipu, tosin myöskin väsymystä ja hyperalgesiaa pyritty hoitamaan TENS:llä (26). Lisäksi TENS:n hyödyllisyyttä on tutkittu myös yliaktiivisen rakon hoidossa (27). TENS:n hyödyllisyydestä kivun hoidossa on olemassa myös Cochrane Review, jossa hyöty on todettu rajalliseksi (24).

Muista sähköisistä stimulaatiomenetelmistä syväaivostimulaatio eli DBS on selvästi invasiivisin, sillä siinä asetetaan elektrodit sen yleisimmissä käyttökohteessa eli Parkinsonin taudissa ventraaliseen talamukseen (28). DBS:ää on myös kokeiltu ainakin dystonioiden, vapinan ja hoitoresistentin masennuksen hoidossa (29,30).

2.3 PAS

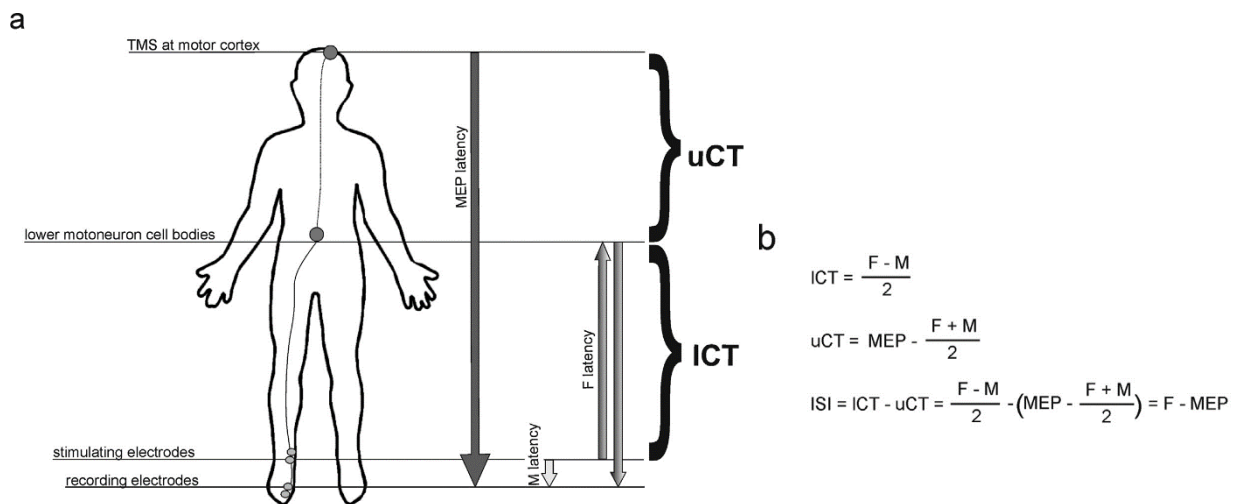
2.3.1 PAS:n historiaa

PAS:n historian katsotaan yleensä alkavan vuonna 2000, kun Stefan ja hänen kollegansa (4) tutkivat hypoteesia siitä, että impulssin saapuminen yhtä aikaa mediaanihermosta motoriselle aivokuorelle (M1) sensorisen aivokuoren (S1) kautta, ja M1:n stimuloiminen samaan aikaan TMS:llä, aikaansaisi plastisuuden lisääntymistä parillisen assosiatiivisen stimulaation kautta. Vastaavaa plastisuuden lisääntymistä oli jo aiemmin saatu aikaan muissa aivojen osissa, kuten auditorisella korteksilla (31), somatosensorisella korteksilla, (32), ja visuaalisella korteksilla (33). Stefanin kokeessa merkittävää oli se, että etukäteisellä mediaanihermon ärsyttämällä ja motorisen korteksin vastaavan alueen stimuloimisella oli mahdollista saada aikaan abductor pollicis breviksen MEP:n kohoaminen. Koska tähän aikaan ei vielä tiedetty, mikä olisi paras aika ärsyttää mediaanihermoa, käytettiin erilaisia ärsykkeiden välisiä intervaleja (Interstimulus Interval, ISI). Testissä oli käytössä ISI:t 25 ms, 100 ms, 525 ms sekä 5000 ms. Näistä 25 ms oli tehokkain, ja sopii hyvin siihen oletukseen, että se tulos minkä Stefan sai, oli nimenomaan LTP:tä, koska siitä lihaksesta, mistä Stefan mittasi, noin 25 ms oli sopiva ISI, jotta ärsykkeet osuivat synapsiin oikeaan aikaan. Stefanin kokeen aikaan ei vielä tunnettu ilmiötä kovin hyvin, joten he käyttivät laajaa skaalaa ISI-arvoja, jotta saataisiin tietoa niiden mahdollisista vaikutuksista.

2.3.2 PAS:n toimintaperiaate

TMS tai PNS yksinään eivät lisää lihasten sähköisiä potentiaaleja. Tämä on loogista hebbiläisen teoriansikin taustalta, jossa neuronin toiminta vahvistuu vain kun se on paritettu jonkin toisen neuronin kanssa ja molemmat saavat stimulaatiota samanaikaisesti. Jälkikäteen on havaittu, että STDP:ssä ärsykkeiden järjestys on hyvin merkityksellinen tekijä. Yleisesti ottaen, jos presynaptinen neuroni laukeaa ennen kuin postsynaptinen neuroni, tapahtuu synapsissa vahvistumista eli LTP:tä (34) ja toisaalta niin, että jos postsynaptinen neuroni tulee ärsytetyksi ennen presynaptista, synapsissa tapahtuu heikentymistä, eli LTD:tä. Neuronien ärsytyksen ei siis täydy olla täsmälleen samanaikaista, vaan on olemassa joidenkin kymmenien millisekuntien mittainen ikkuna, jonka aikana tämä vaikutus voidaan saada aikaan. Myöhemmin on todettu (35), että joillain neuroneilla tilanne on tätä yksinkertaistettua kuvaa monimutkaisempi, mutta se ei muuta sitä perustavanlaatuisia tosiasioita, että synapsit vahvistuvat tai heikentyvät kun niiden pre- ja postsynaptisia neuroneja stimuloidaan lähes samanaikaisesti.

Tässä tutkielmassa keskityttiin jalkojen hermojen vahvistamiseen, ja sitä varten täytyy pystyä mittaamaan hermojen johtonopeuksia siten, että sekä TMS:stä, että PNS:stä tulevat impulssit kohtaisivat alemmassa motoneuronissa. Tätä varten on erikseen kehitetty tekniikka, jossa käytetään jalkojen F-responsseja, eli synapsin perifeerisen ärsytyksen aiheuttamia vasteita, jotka voidaan mitata halutusta lihaksesta. F-responssin avulla voidaan mitata F-latenssi, ja laskemalla yhdessä TMS:n aiheuttaman latenssin kanssa pystytään arvioimaan ISI, joka kertoo sen, millä erolla TMS ja PNS-ärsykkeet tulee lähettää hermoja pitkin, jotta ne kohtaavat optimaalisesti alamotoneuroneissa. Kuvassa 4 on esitetty periaate, jolla tämä ISI lasketaan (36).



Kuva 4. ISI:n laskentaperiaate. (a) F-latenssi voidaan laskea selvittämällä MEP-latenssin lisäksi ylemmän (uCT) ja alemman (ICT) motoneuronin hermoimpulssin johtumisaika. (b) F-latenssi laskemiseen tarvittavat yhtälöt. (Shulga et al. / Journal of Neuroscience Methods 242 (2015) 112–117)

Kun ISI tiedetään, on mahdollista lähettää impulsseja sekä motoriselta korteksilta että perifeerisesti niin, että nämä kohtaavat oikeassa paikassa, eli tämän tutkimuksen tapauksessa alemmassa motoneuronissa. Hebbiläisen periaatteen mukaan (1) tämä vahvistaa synapsin toimintaa ja lisää näin osittaisen selkärankavamman saaneiden jäljellejääneiden synapsien vahvuutta, jolloin aikaansaadaan kliinisesti merkittävää parannusta selkärankavammaisilla (37). Kliinisesti tätä metodia on jo käytettykin hoidoissa, ja pidempään käytössä olleesta käden PAS:sta on lupaavia tuloksia käden hermoyhteyksien vahvistumisesta, koska joidenkin potilaiden kohdalla on havaittu selvää kliinistä parantumista lihasten toiminnassa (38). PAS:n kliininen käyttö on kuitenkin vielä siten varhaisessa vaiheessa, että selkärankavammojen hoidosta kertova artikkeli Lääkärin tietokannoissa ei siitä edes mainitse (39).

Koska kyseessä on kohtuullisen uusi tekniikka SCI:n hoidossa, PAS:n kohdalla on vielä paljon opittavaa tässä suhteessa. PAS:n antamat laajemmat mahdollisuudet LTP:hen erilaisten neuronaalisten yhteyksien välillä on vielä laajempi, ja pitkälti kartoittamaton tutkimusaihe, joka ei tämän tutkielman piiriin mahdu.

3 Tutkimuksen tavoitteet

Tämän tutkimuksen tavoitteena on selvittää, onko PAS-hoidossa eroa sillä, annetaanko PNS taajuudella 100, 200 vai 400 hertsiä. Aiemmin on todettu vertailtaessa 25, 50 ja 100 hertsiä, että 100 hertsiä on näistä tehokkain PAS:n yhteydessä (40). Edellä mainitun tutkimuksen tulos vahvistaa siis sen hypoteesin (41), että korkeampi taajuus tuottaa parempia tuloksia PAS:ssa. Näin ollen olisi siis mahdollista, että vielä korkeampi taajuus, kuten 200 ja 400 hertsiä, tuottaisi vielä parempia tuloksia. Tavoitteena on siten selvittää, ovatko ne tilastollisesti merkitsevästi parempia, tai huonompia, kuin tällä hetkellä parhaaksi havaittu 100 Hz taajuus. Stimulaation vaikutusta MEP-amplitudien muutoksiin verrataan heti hoidon jälkeen, puolen tunnin ja tunnin päästä, jotta voidaan huomioida myös mahdolliset erot siinä, miten stimulaatiotaajuus vaikuttaa vasteisiin ajan kuluessa.

4 Menetelmät

4.1 Koehenkilöt

Tutkimuksen koehenkilöinä oli kymmenen 22-46 -vuotiasta tervettä aikuista (5 naista, 5 miestä, pituuksiltaan 168-180 cm). Poissulkukriteereinä olivat metalliset tai elektroniset laitteet kehossa, merkit nousseesta kallonsisäisestä paineesta ja itsellä todettu ja lähisuvussa esiintyvä epilepsia. Koehenkilöiltä pyydettiin kirjallinen suostumus. Heitä ohjeistettiin olemaan juomatta kahvia kuusi tuntia ennen koetta. Lisäksi heitä kehoitettiin välttämään intensiivistä fyysistä harjoittelua 24 tuntia ennen koetta. Koe suoritettiin vallitsevien säännösten mukaisesti ja sillä oli Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin eettisen lautakunnan lupa.

4.2 TMS-stimulaatio

TMS-pulssi annettiin kahdeksikonmuotoisella kelalla (eXimia, Nextstim Ltd., Helsinki, Suomi) vasemmanpuoleiselle primaariselle motoriselle aivokuorelle (M1), paitsi yhdellä

koehenkilöllä, jolla oikean jalan abductor hallucis ohjaavaa motorista aluetta ei pitkästä etsinnästä huolimatta joutunut, josta syystä käytettiin oikeanpuoleista M1:ä ja vasenta jalkaa. Pulssi kohdistettiin TMS-ohjelmistoon kuuluvan, yksilöllisiin MRI-kuviin perustuvan navigaatiojärjestelmän avulla. Navigaation apuna käytettiin digitoituja markkeripisteitä (kummankin korvan korvakäytävän yläpuolella olevan siltamaisen rakenteen syvin kohta, sekä nasion eli se kohta, jossa nenän kulma alkaa selvästi johtuen alla olevan luuston rakenteesta). Koehenkilön oikeaan jalkaan (paitsi vasempaan yhden mainitun koehenkilön kohdalla) kiinnitettiin elektrodit abductor hallucis -lihakseen ja vertailuelektrodiksi toinen elektrodi oikean isovarpaan luuhun siten, että se ei koskenut abductor hallucista. Lisäksi kiinnitettiin maadoituselektrodi koehenkilön jalan selkämykseen. Kahden ensimmäisen elektrodin avulla mitattiin abductor halluciksen MEP, joka kertoo sen, kuinka voimakkaasti TMS:n antama impulssi vaikuttaa lihakseen (Kuva 5).



Kuva 5. MEP-mittaus. Koehenkilön jalan motoriselle edustusalueelle annetaan TMS-pulssi, ja samalla mitataan jalan lihasvaste (MEP). Kuvaan on koehenkilön lupa. Kuvaaja: Soila Kuuluvainen

TMS-pulssien antaminen aloitettiin 50% voimakkuudella maksimista ja sitä lisättiin samalla kun etsittiin kohtaa, jossa kelan tuottama stimulaatio tuotti luotettavasti sekä

sähköisen lihasvasteen että silmin nähtävän liikkeen jalassa. Löydetyn paikan luotettavuutta arviointiin perustuen sen tuottaman MEP-vasteen säännönmukaisuuden ja koon (huipusta huippuun -amplitudi) perusteella. Potentiaalisen hotspotin (eli kokeessa käytettävän paikan, joka tallennetaan Nexstimin laitteeseen) löydyttyä testattiin Resting Motor Threshold (RMT), jonka arvo määritettiin siten, että mitattiin kymmenen MEP:iä, ja jos viisi näistä oli yli 50 μ V kooltaan, paikka valittiin hotspotiksi. Potentiaalisen paikan kohdalla myös nostettiin intensiteettiä, kunnes löydettiin RMT, eli se arvo, jolla saatiin 5/10 yli 50 μ V:n tulosta. Löydetty paikka valittiin siksi kohdaksi, jota käytettäisiin sekä MEP-latenssin mittaukseen, itse tutkimuksen MEP:ien mittaukseen, sekä PAS-stimulaation antoon. MEP-latenssi laskettiin 15 MEP-mittauksen perusteella, joista laskettiin latenssien keskiarvo. Tätä latenssia käytettiin PNS:n ja TMS:n ärsykkeiden välisen ajan (ISI) laskemiseen.

4.3 PNS ja F-responssit

PNS:ää varten asetettiin kaksi elektrodia (Neuroline 720 , AMBU A/S, Ballerup, Tanska) jalan sisämalleolin posterioriselle puolelle (Kuva 6), siten, että ne ärsyttäisivät tibialishermoa ja aikaansaisivat alemman motoneuronin ärsytyksen, johon kuluva aika voidaan mitata niin kutsutun F-responssin avulla. (36). PNS-stimulaatio aikaansaatiin Dantec Keypoint laitteella (Natus Medical Inc, Pleasanton, CA). Elektrodeja käytettiin aikaansaamaan sähköstimulaatio ja mitattiin myös EMG liittämällä toiset elektrodit abductor hallucikseen ja yksi isovarpaaseen luun päälle, sekä kolmas maadoitukseksi jalan päälle; nämä liitettiin Nexstimin EMG-mittauslaitteeseen.



Kuva 6. Koehenkilön jalkaan kiinnitetyt elektrodit. Kuvaan on koehenkilön lupa. Kuvaaja: Soila Kuuluvainen

F-responssin kohdalla mitattiin 0,2 ms:n pulsseilla supramaksimaalinen F-responssi siten, että sähkövirran voimakkuutta nostettiin, kunnes F-responssi ei enää kasvanut. Näistä pulsseista mitattiin se latenssi, joka neuraalisella pulssilla kesti kulkea alempaan motoneuroniin ja takaisin, ja mittaus tehtiin siten, että pyrittiin löytämään minimaalinen latenssi useammasta mittauksesta. Tämän lisäksi mitattiin tarvittava intensiteetti PNS:lle, joka tehtiin siten, että annettiin 1 ms:n pulsseja, joiden virran voimakkuutta nostettiin, kunnes F-responssi saatiin näkyville. Tätä PNS-intensiteettiä käytettiin sittemmin PAS-hoidossa intensiteettinä, jolla tibialishermoa stimuloitiin hoidon aikana. Itse hoidossa käytettiin tätä intensiteettiä, mutta protokollan mukaisesti annettiin viisi peräkkäistä 1 ms:n pituista sähköärsykettä bifaasisesti, eli siten, että ensimmäisen ärsykkeen virran kulku oli eri suuntaan kuin muiden neljän. Testattavana oli 100 Hz:n, 200 Hz:n ja 400 Hz:n taajuuudet.

4.4 Kokeen kulku

Niiltä koehenkilöiltä, joilla ei ollut valmiiksi viimeaikaista pään MRI:tä, otettiin pään MRI-kuvat Kolmiosairaalan T-kerroksen MRI-laitteilla. Nämä kuvat siirrettiin sitten varsinaiseen mittauslaitteeseen (Nexstim Ltd, Helsinki, Finland), jotta MRI-kuvan avulla oli mahdollista suunnata TMS-pulssit oikeaan paikkaan. Tämä kuva kalibroitiin päähän asetettavan pannan avulla, joka heijasti infrapunasäteilyä tuottavan laitteen säteilyä. Lisäksi MRI-kuviin merkittiin laitteiston vaatimat kolme anatomista kohtaa, jotka on suhteellisen helppo merkitä MRI-kuviin kenen tahansa kohdalla: nasion, eli se kohta, jossa nenän kulma alkaa taivuttua, sekä korvassa olevaa MRI:ssä näkyvää siltaa, joka on käytännössä conchan alueen syvin kohta, eli se kohta korvasta jossa sagittaalisesti katsoen ei näy ilmaa, vaan muodostuu eräänlainen silta. Näihin kohteisiin merkittiin kunkin koehenkilön kohdalle MRI-merkinnät, joihin sitten jokaisen mittauksen yhteydessä suhteutettiin infrapunalaitteen avulla pään paikka. Lisäksi käytettiin yhdeksään kallon pistettä lisäkalibroinniksi, jotta saavutettaisiin mahdollisimman hyvä yhteensopivuus MRI-kuvan ja pään todellisen paikan avulla.

Itse kokeessa mitattiin ensin koehenkilön lihasvasteen eli MEP:n perustaso mittaamalla hotspotin kohdalta 30 MEP:iä, joista otettiin yhteistulos. Tämän jälkeen annettiin varsinainen hoito, jossa kohdassa 4.2 mainittu ISI tulee erittäin olennaiseksi. Kuten aiemmin on mainittu, STDP:n periaatteen mukaan on olennaista, että presynaptinen aksoni saa ärsytyksen ensin, jotta saadaan aikaan LTP:tä eli potentiaatiota ko. synapsissa. Tämän vuoksi oli olennaista käyttää ohjelmaa, joka pystyi antamaan millisekunnin tarkasti ärsykkeen sekä jalkaan että motoriselle korteksille. Tässä kokeessa käytössä oli Presentation-ohjelmisto (Neurobehavioral Systems Inc., Berkeley, U.S.A.), jonka tehtävä oli varmistaa, että stimulut tulivat siinä järjestyksessä kuin mitä oli mitattu aiemmin F-latenssien ja MEP-latenssien kohdalla. Jos F-latenssi oli suurempi kuin MEP-latenssi, sähköärsytys annettiin ensin, ja jos MEP-latenssi oli suurempi kuin F-latenssi, magneettistimulaatio annettiin ensin. Käytännössä lasketaan siis ISI, jonka laskukaava on yksinkertaisesti $ISI = F\text{-latenssi} - MEP\text{-latenssi}$. On tyypillistä, että F-latenssi on suurempi kuin MEP-latenssi, ja niin oli kaikilla koehenkilöillä tässäkin kokeessa. Presentation-ohjelmiston määriteltiin sitten ISI ja toisaalta 5 sekuntia-ISI, koska tarkoituksena oli antaa pulssi viiden sekunnin välein, ja $ISI + 5 \text{ sekuntia} - ISI = 5 \text{ sekuntia}$.

Itse PAS-stimulaatio tapahtui siten, että magneettikela asetettiin mahdollisimman hyvin hotspotin päälle säädettävällä mekaanisella kiinnikkeellä ja sekä TMS- että PNS-laite laitettiin valmiiksi ottamaan vastaan Presentation-laitteiston millisekunnin tarkkaa ohjeistusta. Kullekin koehenkilölle annettiin ohjeistus ajatella oikean (tai vasemman yhden koehenkilön tapauksessa) isovarpaan liikettä kuitenkin liikuttamatta sitä, ja tämän jälkeen annettiin 240 pulssia viiden sekunnin välein sekä sähköisesti tibialis-hermoa pitkin että TMS:llä motoriselle korteksille. Tämän kahdenkymmenen minuutin hoidon jälkeen mitattiin välittömästi uudestaan MEP-vaste hotspotin kohdalta 30 kertaa laskien näistä yhteistulos. Lisäksi mitattiin vastaavat MEP-vasteet 30 minuuttia PAS-hoidon jälkeen ja 60 minuuttia PAS-hoidon jälkeen. Tyypillisesti MEP-vasteet kohosivat heti hoidon jälkeen ja pysyivät koholla 30 minuutin kohdalla, mutta useimmiten vasteet olivat laskeneet normaalitasolle 60 minuutin kohdalla, tai jopa lievästi sen alle.

Koska tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää, onko jalan sähköisten impulssien annossa eroa riippuen siitä, annetaanko 100 Hz:n, 200 Hz:n vai 400 Hz:n taajuinen impulssi, kukin koehenkilö kävi mittauksessa kolme kertaa. Kertojen välissä oli vähintään viikko, jotta

edellinen hoitokerta ei vaikuttaisi seuraavaan mittaukseen. Järjestysvaikutusten mahdollisuuden takia käytettiin kuitenkin Pythonin `random.sample()`-funktiota tai vastaavaa niin, että hoidot tapahtuivat satunnaisessa järjestyksessä.

4.5 Tilastolliset menetelmät

Koetilanteiden vertailua varten muodostettiin MEP-amplitudin muutosta kuvaava muuttuja siten, että 0, 30 ja 60 minuuttia PAS-stimulaation jälkeen mitattu MEP-amplitudi jaettiin ennen PAS-stimulaatiota mitatun MEP:n amplitudilla ja luku kerrottiin sadalla. Käytännössä muuttujina oli siis prosentuaalinen muutos MEP-vasteen amplitudissa. Muuttujien normalisuus todettiin Kolmogorov-Sminovin testillä. Tämän jälkeen aineisto analysoitiin toistomittausten varianssianalyysillä (repeated measures analysis of variance, rANOVA), vertailtavina ulottuvuuksina koetilanne (100, 200 tai 400 Hz) ja aika (0, 30 tai 60 minuuttia hoidon jälkeen). Sfäärisyysoletus testattiin Mauchlyn sfäärisyystestillä ja tarvittaessa käytettiin Greenhouse-Geisser-korjausta. Merkitsevät erot analysoitiin Bonferronin post hoc -testillä. Analyysit suoritettiin SPSS 25.0-ohjelmalla (IBM, U.S.A.).

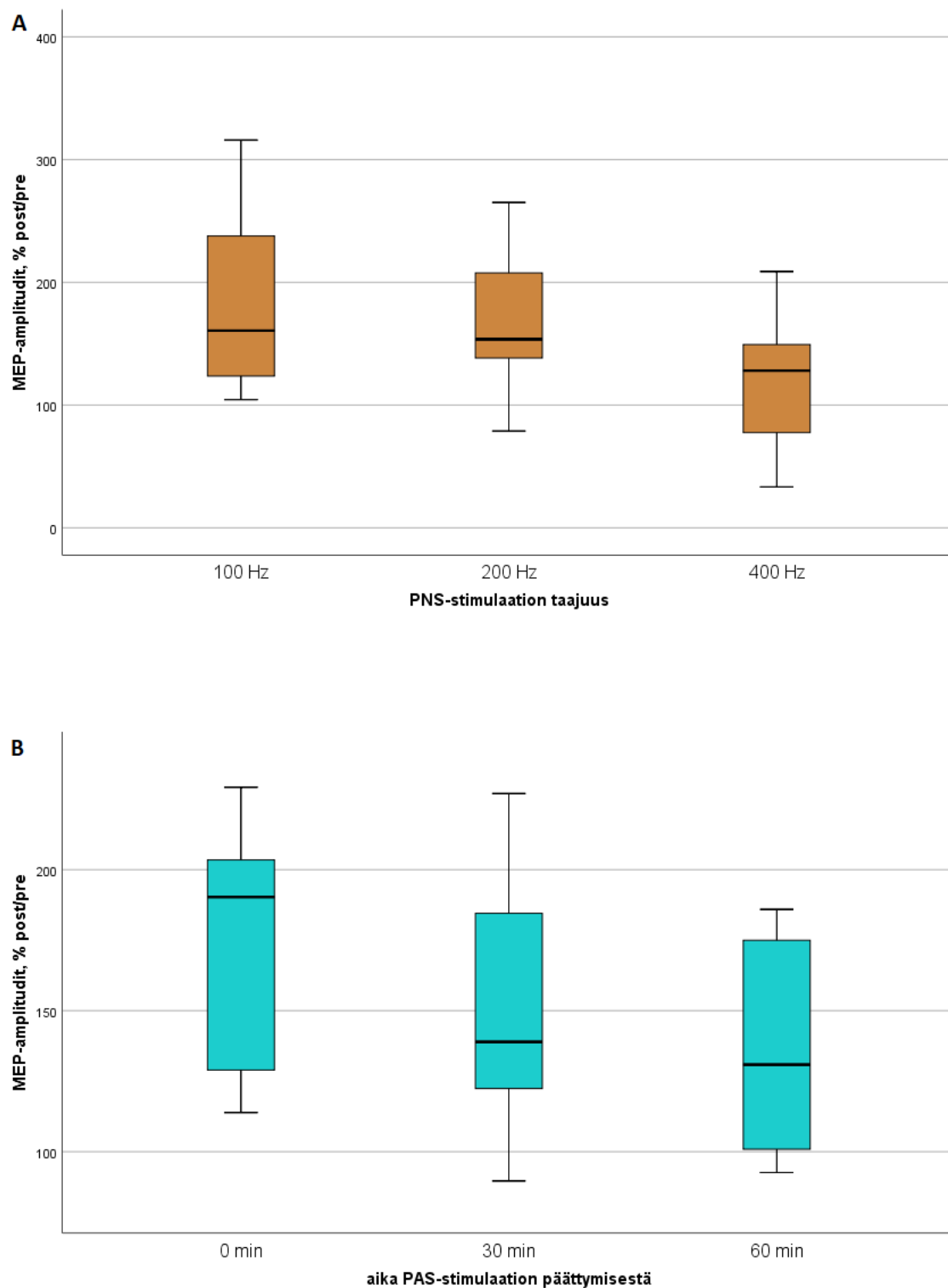
5 Tulokset

Kaikki muuttujat olivat normaalisti jakautuneita ($D=.148-.255$, $p>.05$). Muuttujien keskiarvot, keskihajonnat, minimi ja maksimi ovat taulukossa 1.

Taulukko 1. MEP-amplitudien muutokset prosentteina 100, 200 ja 400 Hz PNS-stimulaatioissa

		<i>Keskiarvo</i>	<i>Keskihajonta</i>	<i>Minimi</i>	<i>Maksimi</i>
100 Hz	0 min	197.68	78.06	356.24	120.33
	30 min	188.75	89.74	360.46	88.56
	60 min	146.91	54.95	231.05	53.07
	<i>keskiarvo</i>	<i>177.78</i>	<i>69.74</i>	<i>315.91</i>	<i>104.34</i>
200 Hz	0 min	181.97	68.48	286.64	93.28
	30 min	149.84	74.61	302.90	57.18
	60 min	158.08	71.29	266.30	74.25
	<i>keskiarvo</i>	<i>163.29</i>	<i>56.30</i>	<i>265.10</i>	<i>78.85</i>
400 Hz	0 min	140.27	71.49	284.93	34.99
	30 min	127.22	75.19	264.20	23.73
	60 min	101.43	59.69	198.27	26.83
	<i>keskiarvo</i>	<i>122.98</i>	<i>57.30</i>	<i>208.78</i>	<i>33.33</i>

Sfäärisyysoletukset pysyivät voimassa, eli korjattuja merkitsevyysarvoja ei tarvinnut käyttää. Toistomittausten varianssianalyysin perusteella koetilanteiden välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa ($F(2,18)=2.03$, $p=.160$; Kuva 7A). Sen sijaan ajan suhteen merkitsevä ero löytyi ($F(2,18)=3.63$, $p=.047$). Post-hoc testien perusteella MEP-muutokset heti hoidon jälkeen ($t=0$ min) ja tunti hoidon jälkeen ($t=60$ min) erosivat melkein merkitsevästi toisistaan ($p=.073$; Kuva 7B). Koetilanteiden ja ajan välinen yhdysvaikutus ei ollut merkitsevä ($F(4,36)=.947$, $p=.448$).



Kuva 7. Boxplot-kuvaajat rANOVA:n tuloksista. (A) PNS-stimulaation taajuuksien välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa. (B) Heti stimulaation jälkeen (0 min) MEP:ien muutos oli tilastollisesti suurempi kuin 60 minuuttia stimulaation jälkeen. 30 minuutin kohdalla ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa kahteen muuhun ajanhetkeen verrattuna.

6 Pohdinta

Tässä tutkimuksessa selvitettiin kolmen eri PNS-taajuuden (100, 200 ja 400 Hz) vaikutusta jalan lihaksesta mitatun MEP:n amplitudin suuruuteen heti stimulaation jälkeen sekä 30 ja 60 minuutin päästä stimulaation päättymisestä. Seuraavassa pohdin tulosten merkitystä kliinisten hoitojen kannalta, niitä koskevia rajoituksia sekä tulevia tutkimusaiheita, sekä tulosten suhdetta aiempiin ja tuleviin tutkimuksiin.

Aiemmassa tutkimuksessa (40) oli verrattu 25, 50 ja 100 hertsin PNS-taajuuksia, joista 100 Hz oli selvästi tehokkain. Tässä tutkimuksessa verrattiin 100, 200 ja 400 hertsin taajuuksia; yli 400 hertsin on käytännössä mahdotonta päästäkään, koska stimulukset ovat millisekunnin pituisia, joten tätä korkeampia arvoja ei fysikaalisesti ole mahdollista tutkia. Jossain määrin yllättävää ehkä oli, että tilastollisesti merkitsevää eroa 100, 200 ja 400 Hz:n välille ei löytynyt. Yllättävää siinä mielessä, että aiemmin taajuuden nousu selvästi kohotti PAS:n tuottamia MEP-arvoja. Vaikuttaa siltä, että taajuudessa on jonkinlainen katto, jonka yli taajuuden nostaminen ei paranna PAS:n antamia tuloksia. 200 ja 400 Hz eivät olleet myöskään merkitsevästi huonompia, mikä viittaisi siihen, että 100 Hz:n taajuus on riittävä saamaan maksimaalisen efektin aikaan PAS:sta. Tämän tutkimuksen pohjalta ei siten ole syytä siirtyä 100 Hz korkeampiin taajuuksiin.

Jo Stefan (4) huomasi, että PAS:n aiheuttama synapsin toiminnan vahvistuminen kestää noin 30-60 minuuttia kertaalleen annetun PAS:n jälkeen. Sama tulos huomattiin tässäkin tutkimuksessa. Ainoa tilastollisesti merkitsevä ero, joka analyysistä saatiin, oli se, että MEP:ien voimakkuus laskee ajan suhteen, kuten on havaittu jo pitkään. Kaikilla testatuilla 100, 200 ja 400 Hz:n taajuuksilla MEP:ien lasku oli samankaltaista.

Tutkimuksen suurimpana rajoituksena voitaneen pitää pientä koehenkilöiden määrää (n=10). Toinen ongelma tutkimuksessa on TMS:lle tyypillinen laaja variaatio koehenkilöiden vasteissa. Erityisesti jalan edustusalue motorisella korteksilla on varsin pieni, ja piilossa aivopuoliskojen keskellä. Tästä esimerkkinä voidaan pitää yhtä koehenkilöä, jolta ei pitkän etsimisenkään jälkeen löytynyt vasemmanpuoleiselta motoriselta korteksilta sopivaa paikkaa, josta stimuloida, jotta saataisiin vaste oikeanpuoleiseen abductor hallucukseen, joten jouduttiin käyttämään vasemmanpuoleista

abductor hallucista. Tämä ei tietenkään sinänsä vaikuta tuloksen relevanssiin, mutta kuvaa sitä, miten vaikea TMS:llä on joskus saada haluttua vastetta. Kuitenkin tutkimuksen reliabiliteetti kokonaisuudessaan oli varsin hyvä, sillä suurimmaksi osaksi mittaukset onnistuivat varsin tyydyttävästi. Tutkimuksen tieteellinen validiteetti oli erinomainen, koska mitattava tekijä, eli varpaan lihaksen MEP oli suoraan nähtävissä kahden elektrodin potentiaalieron.

Lopuksi voidaan todeta, että PAS on vielä nuori ja huonosti tunnettu hoitomuoto, joten siinä on paljon selvitettävää. Tällä hetkellä Helsingin yliopistossa käynnissä olevassa tutkimusprojektissa kartoitetaan muun muassa selkäytimen sähköstimulaation (transspinal Direct Current Stimulation, tsDCS:n) mahdollista etua PAS:lle. Tutkimuksellisesti PAS:iin voi lisätä myös elektro- ja magnetoenkefalografiaa selvittämään millaisia muutoksia PAS saa aikaan motorisen ja sensorisen korteksin tasolla, sekä proprioseptisten verkkojen kohdalla (42).

Lisäksi PAS:n molekulaarisesta ja kemiallisen tason vaikutuksesta tiedetään vielä vähän; kuitenkin on tiedossa, että aivoperäisen hermokasvutekijän (Brain Derived Neurotrophic Factor, BDNF) vaikutus aivoissa on lisätä aksonien kasvamista. SCI:ssä BDNF:ää ei ole riittävästi tarjolla, mutta PAS näyttäisi lisäävän sen esiintymistä ja aiheuttavan kemiallisen ketjun, joka edistäisi aksonien kasvamista ja SCI-potilaiden paranemista. Myös lääkkeelliset kokeet ovat potentiaalisesti hyödyllisiä, erityisesti ottaen huomioon sen, että molekulaarisen tason vaikutuksista tiedetään kuitenkin jo jotain, ja on mahdollista, että PAS:n yhteydessä voi käyttää farmakologisia interventioita, jotka saattavat parantaa jo saavutettavia tuloksia (43–45).

PAS on vasta noin 20 vuotta vanha menetelmä. Uusia tekniikoita, kuten tässäkin tutkimuksessa hyödynnettyä ISI:n mittaamista F-latenssin avulla (36) kehitetään jatkuvasti. PAS:n kohdalla ollaan vielä tieteen löytövaiheessa, ja teoriat alkavat vasta muodostua. Uusia suuntia löytyy runsaasti ja PAS:sta on paljon toivoa selkärankapotilaiden hoitoon. Se on jo todistanut kliinisen hyödyllisyytensä, ja erityisen hienosti, noninvasiivisesti.

Lähdeluettelo

1. Hebb DO. The organization of behavior : a neuropsychological theory. 1949.
2. Levy WB, Steward O. Temporal contiguity requirements for long-term associative potentiation/depression in the hippocampus. *Neuroscience*. 1983 Apr 1;8(4):791–7.
3. Suppa A, Quartarone A, Siebner H, Chen R, Di Lazzaro V, Del Giudice P, et al. The associative brain at work: Evidence from paired associative stimulation studies in humans. *Clin Neurophysiol*. 2017 Nov;128(11):2140–64.
4. Stefan K. Induction of plasticity in the human motor cortex by paired associative stimulation. *Brain*. 2000 Mar 1;123(3):572–84.
5. Purves D, editor. *Neuroscience*. 4th ed. Sunderland, Mass: Sinauer; 2008. 857 p.
6. Sipilä J, Kaasinen V, Hietala, M, Päivärinta M, Majamaa K. Huntingtonin tauti. *Duodecim*. 2019;135(3):249–56.
7. Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin ja Suomen Neurologisen yhdistyksen asettama työryhmä. Parkinsonin tauti: Käypä hoito -suositus. *Duodecim*. 2016;132(1):91–3.
8. Moore KL. Clinically oriented anatomy. Seventh edition. Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health; 2014.
9. Raineteau O, Schwab ME. Plasticity of motor systems after incomplete spinal cord injury. *Nat Rev Neurosci*. 2001 Apr;2(4):263–73.
10. Angeli CA, Edgerton VR, Gerasimenko YP, Harkema SJ. Altering spinal cord excitability enables voluntary movements after chronic complete paralysis in humans. *Brain*. 2014 May;137(5):1394–409.
11. Bhadra N, Kilgore KL, Peckham PH. Implanted stimulators for restoration of function in spinal cord injury. *Med Eng Phys*. 2001 Jan;23(1):19–28.
12. Thuret S, Moon LDF, Gage FH. Therapeutic interventions after spinal cord injury. *Nat Rev Neurosci*. 2006 Aug;7(8):628–43.
13. Ramer LM, Ramer MS, Bradbury EJ. Restoring function after spinal cord injury: towards clinical translation of experimental strategies. *Lancet Neurol*. 2014 Dec;13(12):1241–56.
14. Shocking frogs: Galvani, Volta, and the electric origins of neuroscience. *Choice Rev Online*. 2014;52(01):52-0280-52-0280.
15. Kuhfeld AW. Medical electricity. II. Galvanism. *IEEE Eng Med Biol Mag*. 1995 May;14(3):344–6.
16. Shukla GD. ELECTRO-CONVULSIVE THERAPY : A REVIEW. :19.

17. Ritschkoff J, Vataja R. Sähköhoitoa ei saa unohtaa. Pääkirjoitus Lääketieteel. 2009;
18. Bestmann S, Walsh V. Transcranial electrical stimulation. *Curr Biol*. 2017 Dec 4;27(23):R1258–62.
19. Di Lazzaro V, Rothwell J, Capogna M. Noninvasive Stimulation of the Human Brain: Activation of Multiple Cortical Circuits. *The Neuroscientist*. 2018 Jun;24(3):246–60.
20. Suponeva NA, Bakulin IS, Poydasheva AG, Piradov MA. Safety of transcranial magnetic stimulation: review of international guidelines and new findings. *Neuromuscul Dis*. 2017 Jan 1;7(2):21–36.
21. Lewis G. Transcranial magnetic stimulation for depression. *The Lancet*. 2018 Apr 28;391(10131):1639–40.
22. Wasserman E, Epstein CM, Ziemann U, editors. *The Oxford handbook of transcranial stimulation*. Oxford ; New York: Oxford University Press; 2008. 747 p. (Oxford handbooks series).
23. Sánchez CC, Rodriguez JMG, Olozábal ÁQ, Blanco-Navarro D. Novel TMS coils designed using an inverse boundary element method. *Phys Med Biol*. 2016 Dec;62(1):73–90.
24. Johnson MI, Paley CA, Howe TE, Sluka KA. Transcutaneous electrical nerve stimulation for acute pain. *Cochrane Pain, Palliative and Supportive Care Group*, editor. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2015 Jun 15 [cited 2019 May 19]; Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD006142.pub3>
25. Picht T, Frey D, Thieme S, Kliesch S, Vajkoczy P. Presurgical navigated TMS motor cortex mapping improves outcome in glioblastoma surgery: a controlled observational study. *J Neurooncol*. 2016 Feb 1;126(3):535–43.
26. Dailey DL, Rakel BA, Vance CGT, Liebano RE, Amrit AS, Bush HM, et al. Transcutaneous electrical nerve stimulation reduces pain, fatigue and hyperalgesia while restoring central inhibition in primary fibromyalgia: *Pain*. 2013 Nov;154(11):2554–62.
27. Lordêlo Patrícia, Teles Alcina, Veiga Maria Luiza, Correia Luis Cláudio, Barroso Ubirajara. Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation in Children With Overactive Bladder: A Randomized Clinical Trial. *J Urol*. 2010 Aug 1;184(2):683–9.
28. Bronstein JM, Tagliati M, Alterman RL, Lozano AM, Volkmann J, Stefani A, et al. Deep brain stimulation for Parkinson disease: an expert consensus and review of key issues. *Arch Neurol*. 2011;68(2):165–165.
29. Flora ED, Perera CL, Cameron AL, Maddern GJ. Deep brain stimulation for essential tremor: a systematic review. *Mov Disord*. 2010;25(11):1550–9.

30. Morishita T, Fayad SM, Higuchi M, Nestor KA, Foote KD. Deep brain stimulation for treatment-resistant depression: systematic review of clinical outcomes. *Neurotherapeutics*. 2014;11(3):475–84.
31. Cruikshank SJ, Weinberger NM. Receptive-field plasticity in the adult auditory cortex induced by Hebbian covariance. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 1996 Jan 15;16(2):861–75.
32. Bindman LJ, Murphy KP, Pockett S. Postsynaptic control of the induction of long-term changes in efficacy of transmission at neocortical synapses in slices of rat brain. *J Neurophysiol*. 1988 Sep;60(3):1053–65.
33. Frégnac Y, Burke JP, Smith D, Friedlander MJ. Temporal covariance of pre- and postsynaptic activity regulates functional connectivity in the visual cortex. *J Neurophysiol*. 1994 Apr;71(4):1403–21.
34. Bi G, Poo M. SYNAPTIC MODIFICATION BY CORRELATED ACTIVITY: Hebb's Postulate Revisited. *Annu Rev Neurosci*. 2001 Jul;24(1):139.
35. Nishimura Y, Perlmutter SI, Eaton RW, Fetz EE. Spike-Timing-Dependent Plasticity in Primate Corticospinal Connections Induced during Free Behavior. *Neuron*. 2013 Dec;80(5):1301–9.
36. Shulga A, Lioumis P, Kirveskari E, Savolainen S, Mäkelä JP, Ylinen A. The use of F-response in defining interstimulus intervals appropriate for LTP-like plasticity induction in lower limb spinal paired associative stimulation. *J Neurosci Methods*. 2015 Mar;242:112–7.
37. Kumpulainen S, Mrachacz-Kersting N, Peltonen J, Voigt M, Avela J. The optimal interstimulus interval and repeatability of paired associative stimulation when the soleus muscle is targeted. *Exp Brain Res*. 2012 Sep 1;221(3):241–9.
38. Tolmacheva A, Savolainen S, Kirveskari E, Lioumis P, Kuusela L, Brandstack N, et al. Long-Term Paired Associative Stimulation Enhances Motor Output of the Tetraplegic Hand. *J Neurotrauma*. 2017 Sep 15;34(18):2668–74.
39. Lääkäriin tietokannat - Duodecim [Internet]. [cited 2019 May 29]. Available from: <https://www-terveysportti-fi.libproxy.helsinki.fi/apps/ltk/ykt01963?search=selk%C3%A4ydinvamma>
40. Tolmacheva A, Mäkelä JP, Shulga A. Increasing the frequency of peripheral component in paired associative stimulation strengthens its efficacy. *Sci Rep*. 2019 Dec;9(1):3849.
41. Shulga A, Zubareva A, Lioumis P, Mäkelä JP. Paired associative stimulation with high-frequency peripheral component leads to enhancement of corticospinal transmission at wide range of interstimulus intervals. *Front Hum Neurosci*. 2016;10:470.
42. Ahmed Z. Electrophysiological Characterization of Spino-Sciatic and Cortico-Sciatic Associative Plasticity: Modulation by Trans-Spinal Direct Current and

- Effects on Recovery after Spinal Cord Injury in Mice. *J Neurosci*. 2013 Mar 13;33(11):4935–46.
43. Chao MV. Neurotrophins and their receptors: A convergence point for many signalling pathways. *Nat Rev Neurosci*. 2003 Apr;4(4):299–309.
 44. Shulga A, Magalhaes AC, Autio H, Plantman S, di Lieto A, Nykjaer A, et al. The Loop Diuretic Bumetanide Blocks Posttraumatic p75NTR Upregulation and Rescues Injured Neurons. *J Neurosci*. 2012 Feb 1;32(5):1757–70.
 45. Shulga A, Thomas-Crusells J, Sigl T, Blaesse A, Mestres P, Meyer M, et al. Posttraumatic GABAA-mediated $[Ca^{2+}]_i$ increase is essential for the induction of brain-derived neurotrophic factor-dependent survival of mature central neurons. *J Neurosci*. 2008;28(27):6996–7005.